Eficacia de Monepantel contra Nematodes de Ovinos con Resistencia Antihelmíntica Múltiple en la Región Templada de Argentina.

Vet. Arg. – Vol. XXVIII - Nº 273 – Enero 2011.
Steffan P.[(1)], Sánchez E. [(2)], Entrocasso C. [(2)], Fiel C. [(1)], Lloberás M. [(2)], Riva E. [(1) (3)] y Guzmán M. [(1)]

Resumen.

Se desarrolló una prueba controlada de eficacia antihelmíntica con Monepantel* en ovinos infectados naturalmente con nematodes trichostrongylideos resistentes a ivermectina, derivados benzimidazólicos y moxidectin de la región templada-fría de la Pampa Húmeda en Argentina.

Un lote de 14 corderos de la raza Corriedale fue dividido en dos grupos comparables de 7 animales cada uno. El Grupo 1 fue tratado oralmente con Monepantel a la dosis de 1 ml/ 10 k.p.v., equivalente a 2.5 mg/ k.p.v. El Grupo 2 actuó como control no tratado. Los grupos permanecieron en corrales separados y alimentados con heno seco de alfalfa libre de larvas infectivas hasta la necropsia.

A los 9 días post-tratamiento los animales fueron necropsiados para contar e identificar las poblaciones de nematodes establecidas en el tracto digestivo y determinar la eficacia del compuesto evaluado por comparación entre los dos grupos del estudio.

La reducción del conteo de huevos en heces (HPG) fue de 100% a los 4 días post-tratamiento y se mantuvo hasta la necropsia de los animales ($P < 0.05$).

La eficacia fue de 100% contra *Haemonchus contortus, Teladorsagia circumcincta, Trichostrongylus vitrinus, Trichostrongylus colubriformis, Cooperia curticei y Cooperia mcmasteri* ($P< 0.05$) y > 99% contra *Trichostrongylus axei y Nematodirus spathiger* ($P< 0.05$). La eficacia sobre *Trichuris ovis* fue de 75.5%.

Monepantel resultó altamente eficaz contra infecciones por nematodes gastrointestinales con resistencia antihelmíntica múltiple en ovinos. Por tratarse de un nuevo principio activo, su uso estará especialmente indicado en aquellos establecimientos con demostrada resistencia a los antihelmínticos disponibles en el mercado veterinario.

* ZOLVIX ® Novartis Animal Health

Palabras claves: nematodes, ovinos, resistencia antihelmíntica, eficacia monepantel.

Efficacy of Monepantel against Multiple Anthelmintic Resistant Nematodes in Sheep of the Temperate Area of Argentina.

Summary.

A controlled test efficacy trial with Monepantel* against nematodes resistant to ivermectin, benzimidazole derivates and moxidectin in naturally infected sheep of the temperate area of Argentina was carried out.

Fourteen weaned Corriedale lambs harbouring natural infections with trichostrongyles were divided into two comparable groups of 7 animals each. Group 1 was orally treated with Monepantel at the dose rate of 2.5 mg/k.b.w. – 1 ml/ 10/k.b.w.- while animals from Group 2 remained as non-treated control. Both treatment groups were on separated concrete floored pens and fed lucerne dry grass and fresh water ad-libitum up to necropsy.

All animals were necropsied on day +9 after treatment and digestive tracts were removed for worm recovery, identification and counting from treated and non treated animals to determine the efficacy of Monepantel.

The efficacy of Monepantel was 100% against *Haemonchus contortus, Teladorsagia circumcincta, Trichostrongylus vitrinus, Trichostrongylus colubriformis, Cooperia curticei y Cooperia mcmasteri* ($P < 0.05$) and > 99% against *Trichostrongylus axei* y *Nematodirus spathiger* ($P < 0.05$). The efficacy against *Trichuris ovis* was 75.5%. Nematode egg excretion (e.p.g.) was nule (100%) at day + 4 from treatment onwards ($P < 0.05$).

These results indicate that monepantel showed a high efficacy against multiple anthelmintic resistant trichostrongyles of sheep, being specially recommended to be used in a rotational scheme of drugs treatments and mainly, in flocks were resistance to anthelmintics has already been diagnosed.

* ZOLVIX (R) Novartis Animal Health.

Key words: nematodes, sheep, anthelmintic resistance, efficacy monepantel.

(1) Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Campus Universitario (7000) Tandil, Argentina.

(2) Estación Experimental Balcarce, INTA, Ruta 226 Km. 73.5 (7620) Balcarce, Argentina

(3) Becaria Doctoral de CONICET

Mail to: steffan@vet.unicen.edu.ar

Introducción.

Las infecciones helmínticas en los ovinos se encuentran ampliamente distribuidas en diferentes regiones del país con una composición poblacional que involucra los nematodes trichostrongylideos con mayor impacto económico en los sistemas de producción (Suarez, 2007). El control de las infecciones parasitarias es fundamental para disminuir la mortalidad de animales y minimizar los efectos subclínicos de la enfermedad sobre la producción de carne y lana (Romero y col. 2007).
En la práctica, el control de los nematodes internos se ha basado fundamentalmente en la aplicación de tratamientos antihelmínticos utilizando los distintos principios activos disponibles en el mercado veterinario, principalmente benzimidazoles, imidazothiazoles y lactonas macrocíclicas. Sin embargo, la administración masiva e indiscriminada de los distintos principios activos durante períodos prolongados, ha ejercido una excesiva presión de selección sobre las poblaciones parasitarias las que han mutado hacia la resistencia a la mayoría de los compuestos disponibles actualmente en el mercado veterinario (Eddi y col. 1996; Nari, 2003; Caracostantogolo y col. 2005).
El fenómeno de resistencia a los antihelmínticos constituye un serio problema en la producción ovina de diversos países de la región como Uruguay (Nari y col. 1996), Brasil (Echevarría y col. 1996) y Paraguay (Maciel y col. 1996) y también, en distintas regiones del mundo (Sargison et.al., 2007; Sutherland et.al, 2008), sugiriéndose la búsqueda de nuevas alternativas que suplanten o complementen el control químico, en un intento de continuar minimizando el impacto de los nematodes trichostrongylideos en animales expuestos naturalmente a la enfermedad (Waller, 2003) y retrasar el desarrollo de resistencia a los compuestos utilizados en los programas de control.
Sin embargo, el desarrrollo de una nueva clase de antihelmínticos derivados del amino-acetonitrilo (AAD) con el Monepantel como el primer compuesto desarrollado e investigado a partir de esta estructura química (Kaminsky et.al, 2008 a,b,; Ducray et.al. 2008), ha renovado la expectativa para recuperar el control de los nematodes trichostrongylideos en los sistemas de producción de ovinos en condiciones de pastoreo, donde la resistencia a los diferentes principios activos ya está establecida.
En el presente trabajo se presentan los resultados de una prueba controlada para determinar la de eficacia del Monepantel contra nematodes gastrointestinales del ovino naturalmente adquiridos y con probada resistencia múltiple a diversos principios con actividad antihelmíntica disponibles en el mercado veterinario.

Materiales y métodos.

Lugar de la prueba.

La prueba controlada de eficacia se desarrolló en las instalaciones de la Unidad de Ganadería Ovina Reserva 8, INTA, Estación Experimental Balcarce, ubicada en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. Dispone de praderas permanentes que han sido pastoreadas en los últimos años por distintas categorías de ovinos involucrados en diferentes programas de producción y mejoramiento genético.

Antecedentes parasitológicos en el establecimiento.

La gastroenteritis verminosa en la ganadería ovina de la Unidad fue un problema sanitario aparentemente controlado debido al tradicional pastoreo conjunto o alternado ovino/bovino que ha sido empleado a través de los años de producción.

Los programas de control han sido variables en el tiempo y se han aplicado distintos principios activos en rotaciones variables a lo largo de los años. No obstante, existen registros de resistencia a distintos compuestos diagnosticada por el test de reducción de huevos en materia fecal (TRCH) y coprocultivos (Cuadro 1, Entrocasso C., común. personal; Entrocasso et.al., 2008).

Cuadro 1. Antecedentes de resistencia antihelmíntica a distintos principios activos (TRCH) en Reserva 8 (INTA – EEA Balcarce)

Año	***Haemonchus contortus***	***Trichostrongylus spp.***	***Teladorsagia circumcincta***
2001	IVM/MXD	IVM/MXD	IVM
2003	FBZ/IVM	IVM	FBZ
2005	FBZ/IVM	FBZ/IVM	IVM
2008	ABZ/IVM	ABZ/IVM	IVM

Ref.: IVM: Ivermectina; MXD: Moxidectin; FBZ: Fenbendazole; ABZ: Albendazole.

Diseño experimental.

El diseño experimental contempló la conformación de dos grupos comparables de 7 animales cada uno (Día 0), distribuidos de a pares luego de ordenar de mayor a menor los valores individuales del número de huevos de nematodes en materia fecal (HPG). Cada animal fue pesado y recibió el tratamiento de acuerdo con el grupo al cual fue asignado (Cuadro 2).Cuadro 2. Diseño experimental de la prueba.

Grupo	**Animales**	**Tratamiento**	**Dosis**
1	7	Monepantel	1 ml/2.5 mg k.p.v. (1 ml/10 k.p.v.)
2	7	Solución Fisiológica	1 ml/10 k.p.v.

Cada grupo fue alojado en corrales con piso de cemento y alimentados con heno libre de larvas infectivas de nematodes. Se extrajeron muestras de materia fecal de los animales del Grupo 1 para determinar los valores de HPG a los días +2 y +4 del tratamiento. A los nueve días de efectuado el tratamiento los animales fueron necropsiados para recuperar, identificar y contar los nematodes presentes en el tracto digestivo.

Animales experimentales.

Hacia fines de la primavera de 2008 (día – 7) se identificaron 20 corderos destetados de raza Corriedale comparables en peso vivo y estado clínico que no habían recibido tratamiento antiparasitario y se les extrajo muestras individuales de materia fecal para determinar los niveles de HPG través de la técnica de McMaster modificada (Roberts & O´Sullivan, 1949). Se seleccionaron 14 animales que registraron los HPG más altos y

quedaron encerrados (día -7) en un corral y alimentados con heno seco de alfalfa libre de larvas infectivas de nematodes trichostrongylideos y agua fresca ad-libitum. Se les extrajo nuevamente materia fecal para determinar el nivel final de HPG (día -3) previo al tratamiento antiparasitario (día 0). Conformación de los grupos y tratamientos de la prueba.

En el día 0 los animales seleccionados fueron pesados individualmente y se conformaron los grupos que serían involucrados en los tratamientos experimentales (Cuadro 3).

Cuadro 3**.** Grupos y tratamientos experimentales.

Grupo 1: Monepantel				**Grupo 2: Control (Solución Fisiológica)**			
Caravana Nº	**HPG**	**Peso (kg)**	**Dosis (ml)**	**Caravana Nº**	**HPG**	**Peso (kg)**	**Dosis (ml)**
37	4800	16	1.6	32	3320	17	1.7
47	1600	17	1.7	48	1600	18	1.8
38	1200	17	1.7	35	1400	20	2.0
41	1200	16	1.6	50	1040	17	1.7
39	960	18	1.8	43	920	16	1.6
33	800	16	1.6	34	720	18	1.8
31	640	16	1.6	49	600	16	1.6
Promedio	**1600**	**16.6**	**1.7**		**1371**	**17.4**	**1.7**

Los animales del Grupo 1 fueron tratados con Monepantel, formulación para vía oral al 2.5% suministrada por Novartis Animal Health (Zolvix®), a la dosis de 1 ml/ 10 kilos de peso vivo, ajustando el volumen al peso exacto de cada animal y fraccionada en 0.1 ml por cada kilo de peso. El volumen mencionado fue equivalente a una dosis de 2.5 mg/ kilo de peso vivo.

Los corderos del Grupo 2 recibieron por vía oral un volumen de solución fisiológica (NaCl 0.9%) equivalente a la dosis que le correspondiera de Monepantel y actuaron como grupo control no tratado.

Alojamiento y alimentación.

Los animales fueron alojados en corrales techados con piso de cemento y separados, de acuerdo con el tratamiento asignado durante todo el estudio. Se suministró agua fresca *ad-libitum* y heno de alfalfa libre de larvas infectivas de nematodes. Los corrales fueron limpiados diariamente para mantener las condiciones higiénicas y sanitarias apropiadas para el estudio.

Observación clínica y muestreos post-tratamiento.

Los animales fueron observados diariamente para registrar cualquier anormalidad atribuible al tratamiento antiparasitario y en los días + 2 y + 4 de la prueba se extrajeron muestras de materia fecal a los animales del Grupo 1 para determinar la cantidad de huevos de nematodes gastrointestinales (HPG).

Necropsia y procedimiento de laboratorio.

En el día +9 de la prueba, los animales fueron necropsiados de acuerdo con los procedimientos establecidos por el Comité de Ética y Bienestar Animal (Acta 087/02) de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNCPBA) (http://www.vet.unicen.edu.ar) y siguiendo los lineamientos sugeridos por la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.), Wood et.al., 1995 en el procesamiento de las muestras para los estudios parasitológicos.

Se extrajeron el cuajo, intestino delgado y grueso para la recuperación e identificación de nematodes.

El abomaso fue ligado en sus extremos al momento de la necropsia y luego de extraerlo y abrirlo se recogió el contenido con el lavado de la mucosa tomándose una alícuota del 10% a la que se agregó formol al 10% y se almacenó a 4º C hasta su lectura. La mucosa del cuajar fue separada por raspado y procesada por digestión enzimática con pepsina y HCl a 37º C. Las muestras fueron clarificadas sobre un tamiz de 37 micras entre hilos, fraccionadas en alícuotas de 10% y conservadas como las anteriores hasta su lectura.

Los intestinos delgado y grueso fueron abiertos con enterótomo y el contenido fue recogido en recipientes graduados para extraer el 10% de la muestra total. Las alícuotas se conservaron hasta su lectura, de la misma manera que las obtenidas del cuajo. Las lecturas de muestras se realizaron utilizando para su limpieza un tamiz de 75 micras entre hilos.

De las muestras del cuajo e intestino delgado se procesó para lectura el 10% de la alícuota obtenida en la necropsia, mientras que para el intestino grueso, se procesó la alícuota total separada en la necropsia.

Los nematodes recuperados de cada órgano fueron cuantificados e identificados a nivel de género y especie utilizando las claves descriptas por Lukovich (1981). Los pulmones de todos los animales necropsiados fueron inspeccionados para detectar la presencia de helmintos o lesiones macroscópicas compatibles con la infección por vermes (Jorgensen & Ogbourne, 1985).

Determinación de la eficacia.

La eficacia de Monepantel fue calculada a través de la determinación de la media geométrica del número de nematodes recuperados en cada grupo experimental y utilizando la siguiente fórmula:

Eficacia (%): $\frac{\text{Media Geom. Control} - \text{Media Geom. Tratado}}{\text{Media Geom. Control.}} \times 100$

Se utilizó el programa InfoStat (2004) para la comparación estadística de valores entre los Grupo 1 y 2 respectivamente.

Resultados.

Observación clínica y muestreo post-tratamiento.

No se observó ninguna anormalidad ni efecto colateral en los animales del Grupo 1 tratado con Monepantel.

El número de huevos de nematodes en la materia fecal de los animales del Grupo 1 a los 2 y 4 días del tratamiento se presentan en el Cuadro 4. Se observó una drástica reducción del HPG a los 2 días del tratamiento (> 98%). A los 4 días p.t. los conteos fueron nulos (Cuadro 4).

Cuadro 4**.** Número de huevos por gramo en la materia fecal (HPG) de los animales tratados con Monepantel 2.5%.

Animal Nº	**Día 0**	**Día + 2**	**Día + 4**
37	4800	20	0
47	1600	0	0
38	1200	0	0
41	1200	0	0
39	960	80	0
33	800	40	0
31	640	0	0
Promedio	1600	20	0

Recuento e identificación de nematodes.

El número de nematodes en los animales de los Grupos 1 y 2 se presentan en los Cuadros 5 y 6 respectivamente.

En los animales del Grupo 1 se recuperaron e identificaron especímenes de *Trichostrongylus axei, Nematodirus spathiger y Trichuris ovis,* mientras que en los animales controles no tratados del Grupo 2 se detectó la presencia de *Haemonchus contortus, Teladorsagia circumcincta, Trichostrongylus axei Trichostrongylus colubriformis, Trichostrongylus vitrinus, Cooperia curticei, Cooperia mcmasteri, Nematodirus spathiger, Trichuris ovis.*

No se observó la presencia de helmintos ni de lesiones compatibles con la infección por vermes pulmonares en ninguno de los animales necropsiados. Se registró la presencia de una importante infección por *Moniezia spp.* en todos los animales de la prueba.

Cuadro 5. Número de nematodes en los animales del Grupo 1 (Monepantel 2,5%).

Animal	**ABOMASO**			**INTESTINO DELGADO**			**I.GRUESO**
Nº	***Haem***	***Teladors.***	***T. axei***	***Trich.***	***Coop.***	***Nematod.***	***Trichuris***
37	0	0	0	0	0	0	10

47	0	0	0	0	0	100	10
38	0	0	0	0	0	0	50
41	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	100	0	0	0	40
33	0	0	0	0	0	0	30
31	0	0	0	0	0	0	20
Promedio	0	0	14.28	0	0	14.28	22.86
M. Geom.	0	0	1.93	0	0	1.93	14.26

Cuadro 6. Número de nematodes en los animales del Grupo 2 (Control Sin Tratamiento).

Animal	**ABOMASO**			**INTESTINO DELGADO**			**I.GRUESO**
Nº	***Haem.***	***Teladors.***	***T. axei***	***Trich.***	***Coop.***	***Nematod.***	***Trichuris***
37	1100	2200	800	700	1300	500	130
47	800	3100	600	400	1100	600	20
38	900	3600	600	900	2700	1100	40
41	600	1800	1100	700	2200	400	90
39	1000	2700	400	600	1600	600	70
33	900	1700	500	1200	1800	1200	80
31	1300	2200	900	800	2000	1400	40
Promedio	942.86	2471.43	700	757.14	1814.29	828.57	67.14
M. Geom.	917.28	2390.64	664.19	721.33	1743.27	749.66	57.57

Eficacia del Monepantel

La eficacia antihelmíntica obtenida por Monepantel 2.5% contra nematodes trichostrongylideos de ovinos naturalmente adquiridos y con antecedentes de resistencia antihelmíntica múltiple se muestra en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Eficacia de Monepantel 2.5% contra nematodes trichostrongylideos con antecedentes de resistencia antihelmíntica múltiple.

	ABOMASO			**INTESTINO DELGADO**			**I.GRUESO**	
	Haem.	***Teladors.***	***T. axei***	***Trich.***	***Coop.***	***Nematod.***	***Trichuris***	HPG
Eficacia (%)	100*	100*	99.7*	100*	100*	99.7*	75.2	100*

*P < 0.05.

Discusión.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia absoluta del Monepantel – compuesto derivado del amino-acetonitrilo (AAD)- contra nematodes trichostrongylideos de ovinos naturalmente adquiridos y con antecedentes de resistencia antihelmíntica múltiple.

Para el estudio, los animales fueron removidos de la pastura a corrales con piso de cemento y alimentados con heno libre de larvas infectivas durante siete dias hasta que fueron tratados; por lo tanto, es probable que al momento del tratamiento con Monepantel, la infección parasitaria en los animales, estuvo constituída por una mezcla de estadíos parasitarios en desarrollo y nematodes adultos.

La alta eficacia obtenida (> 99%) contra los nematodes de localización abomasal *H. contortus, T. circumcincta, T. axei* y los que parasitan el intestino delgado *T. colubriformis, T. vitrinus, C. curticei, C. mcmasteri* y *N. spathiger* es coincidente con estudios previos en ovinos con infecciones experimentales o naturales con cepas que demostraron distinto nivel de susceptibilidad y resistencia al resto de los principios activos – levamisole, benzimidazoles y avermectinas- (Hosking et. al., 2008; Sager et. al. 2009; Bustamante et.al, 2009) incluyendo estadíos inmaduros (L4) o adultos de los distintos nematodes.

La explicación de su alta eficacia sobre cepas parasitarias resistentes al resto de los antihelmínticos estaría dada en que los derivados del amino acetonitrilo (AAD) presentan un modo y lugar de acción diferente al que tienen los otros antihelmínticos. Mientras los derivados benzimidazólicos actúan sobre las b-tubulinas (Martin, 1997), los imidazothiazoles lo hacen sobre la subunidad UNC-38 de los receptores de acetilcolina- (Sangster et.al. 2005) y las lactonas macrocíclicas sobre el sistema GABA- (Wolstenholme & Rogers, 2005), los AAD actúan interfiriendo la subunidad ACR-23 del grupo específico DEG-3 de los receptores colinérgicos nicotínicos involucrados en el proceso de neurotransmisión muscular de los nematodes (Kaminsky et.al. 2008a).

Los niveles de excreción de huevos de nematodes en materia fecal fueron reducidos drásticamente hacia las 48 hs del tratamiento con Monepantel quedando tres animales positivos sobre siete tratados; a los 4 días post-tratamiento todos los animales fueron negativos. Estos resultados son ampliamente comparables con los descriptos por Sager et.al. (2010) quienes empleando infecciones experimentales demostraron una significativa reducción de los niveles de excreción de huevos en materia fecal a las 60 hs post-tratamiento y negativizándose a los 4 días; no encontraron diferencia en la disminución de los niveles de excreción de huevos entre cepas de nematodes sensibles o resistentes a otros principios activos luego del tratamiento con Monepantel.

La eficacia de Monepantel contra *Trichuris ovis* fue de 75.2% indicando que no tiene una actividad terapéutica adecuada para el control de este nematode; este resultado es coincidente con los hallazgos de Sager et.al. (2009) y revela nuevamente la dificultad o variabilidad de eficacia que tienen también otros principios activos para eliminar este nematode del intestino grueso de los ovinos (Lyons et.al, 1988; Coles et.al., 1994).

El presente estudio encuadra al Monepantel como altamente eficaz > 98%- contra nematodes trichostrongylideos (Wood et.al., 1995) abarcando cepas con resistencia

múltiple a distintos compuestos disponibles en el mercado veterinario, cuando es administrado oralmente a los ovinos a la dosis de 2.5 mg/ kilo de peso vivo.

Su utilización en programas de control contribuirá a disminuir las pérdidas económicas en los sistemas de producción ovina que se desarrollan en las áreas templadas y frías de la Pampa Húmeda de Argentina, especialmente, en aquellos establecimientos donde la resistencia a los antihelmínticos ha sido diagnosticada y por lo tanto, constituye uno de los problemas sanitarios y productivos más importantes a resolver.

Agradecimiento.

Los autores agradecen al Sr José Llamas y personal de campo de la Reserva 8 de la EEA-INTA Balcarce y al Sr. Bernardino Borda del Laboratorio de Parasitología de la EEA-INTA Balcarce por la responsabilidad, colaboración y amplia predisposición para llevar adelante los trabajos de campo, mantenimiento, muestreos y necropsia de los animales del estudio.

Bibliografía.

Bustamante M, Steffan P., Bonino Morlán J., Echevarria F., Fiel C., Cardozo H., Castells D. & Hosking B., 2009. The efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative, against gastrointestinal nematodes of sheep in three countries of southern Latin America. Parasitol. Res. 106: 139–144.

Coles, G.C., Giordano-Fenton, D.J., Tritschler, J.P., 1994. Efficacy of moxidectin against nematodes in naturally infected sheep. Vet. Rec. 135, 38–39.

Caracostantogolo, J., Castaño, R., Cutullé, Ch., Cetrá, B., Lamberti, R., Olaechea, F., Ruiz, M., Schapiro, J., Martínez, M., Balbiani, G., Castro, M., 2005. Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. In: Eddi, C., Vargas Terán, M. (Eds.), Resistencia a los Antiparasitarios Internos en Argentina. FAO Producción y Sanidad Animal, Roma, pp. 7–34.

Ducray, P., Gauvry, N., Pautrat, F., Goebel, T., Fruechtel, J., Desaules, Y.,Schorderet Weber, S., Bouvier, J., Wagner, T., Froelich, O., Kaminsky, R., 2008. Discovery of amino-acetonitrile derivatives, a new class of synthetic anthelmintic compounds. Bio. Med. Chem. Lett. 18, 2935–2938.

Echevarria, F., Borba, M.F.S., Pinheiro, A.C., Waller, P.J., Hansen, J.W., 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. Vet. Parasitol. 62, 199–206.

Eddi, C., Caracostantologo, J., Peña, M., Schapiro, J., Marangunich, L., Waller, P.J., Hansen, J.W., 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Argentina. Vet. Parasitol. 62, 189–197.

Entrocasso, C, Alvarez L., Manazza J., Lifschitz A., Borda B., Virkel G., Mottier L., Lanusse C.; 2008. Clinical efficacy assessment of the albendazole–ivermectin combination in lambs parasitized with resistant nematodes. Veterinary Parasitology 155, 249–256.

Hosking BC, Stein PA, Mosimann D, Seewald W, Strehlau G, Kaminsky R (2008) Dose determination studies for monepantel, an amino-acetonitrile derivative, against fourth stage gastrointestinal nematode larvae infecting sheep. Vet Parasitol 157:72–80.

InfoStat (2004) InfoStat versión 2004. Manual del usuario, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas. Argentina.

Jorgensen, R. & Ogbourne, C., 1985. Bovine dictyocaulosis: a review annotated bibliography. Commonwealth Institute of Parasitology, 1985.

Kaminsky, R., Ducray, P., Jung, M., Clover, R., Rufener, L., Bouvier, J., Schorderet Weber, S., Wenger, A., Wieland-Berghausen, S., Goebel, T., Gauvry, N., Pautrat, F., Skripsky, T., Froelich, O., Komoin-Oka, C., Westlund, B., Sluder, A., Mäser, P., 2008a.

A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. Nature 452, 176–180.

Kaminsky, R., Gauvry, N., Schorderet Weber, S., Skripsky, T., Bouvier, J.,Wenger, A., Schroeder, F., Desaules, Y., Hotz, R., Goebel, T., Hosking, B.C., Pautrat, F., Wieland-Berghausen, S., Ducray, P., 2008b. Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as anew anthelmintic drug development candidate. Parasitol. Res. 103, 931–939.

Lukovich, A., 1981. Identificación de las formas adultas de los nematodos gastrointestinales y pulmonares de los rumiantes en la República Argentina, Publ. INTA – Nematodo, Argentina.

Lyons, E.T., Drudge, J.H., Tolliver, S.C., 1988. Activity of febantel on natural infections of gastrointestinal helminths in lambs in a controlled test. Am. J. Vet. Res. 49, 901–902.

Maciel, S., Giménez, A.M., Gaona, C., Waller, P.J., Hansen, J.W., 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Paraguay. Vet. Parasitol. 62, 207–212.

Martin R J., 1997. Modes of Action of Anthelmintic Drugs. Vet. J. 154: 11-34. Nari, A., 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. FAO: Producción y Sanidad Animal, Nº 157: 1-60.

Nari, A., Salles, J., Gil, A., Waller, P.J., Hansen, J.W., 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay. Vet. Parasitol. 62, 213–222.

Roberts, F.; O'Sullivan P.; 1949. Methods for egg count and larval cultures for strongyles infesting gastrointestinal tract of cattle. Aust. J. Agric. Res., 1: 99-102.

Romero, J., Sánchez, R., Boero, C., 2007. Nematodes. Epidemiología y control. Epidemiología de la gastroenteritis verminosa de los ovinos en la pampa húmeda y la mesopotámica. En: Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores

en el cono sur de América. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Publicación Técnica Nº 70, ISSN 0325-2132, Mayo 2007, 33 – 42.

Sager H, Hosking BC, Bapst B, Stein P, Vanhoff K, Kaminsky R (2009) Efficacy of the amino-acetonitrile derivative, monepantel,against experimental and natural adult stage gastro-intestinal nematode infections in sheep. Vet Parasitol 159:49–54.

Sager, H., Rolfe, P., Strehlau, G., Allan, B., Kaminsky, R., Hosking, B., 2010. Quarantine treatment of sheep with monepantel—Rapidity of fecal egg count reduction. Vet. Parasitol. 170, 336–339.

Sangster, N.C., Song, J., Demeler, J., 2005. Resistance as a tool for discovering and understanding targets in parasite neuromusculature. Parasitology 131, 179–190.

Suárez, V.H., 2007. Nematodes. Sistemática y bionomía de los principales nematodes de los lanares. En: Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Publicación Técnica Nº 70, ISSN 0325-2132, Mayo 2007, 15 – 32.

Sargison, N.D., Jackson, F., Bartley, D.J., Wilson, D.J., Stenhouse, L.J., Penny, C.D., 2007. Observations on the emergence of multiple anthelmintic resistance in sheep flocks in the south-east of Scotland. Vet. Parasitol., 145 (1-2), 65-76.

Sutherland, I.A., Damsteegt, A., Miller, C.M., Leathwick, D.M., 2008. Multiple species of nematodes resistant to ivermectin and a benzimidazole-levamisole combination on a sheep farm in New Zealand. N.Z.Vet. J. 56 (2), 67–70.

Waller, P., 2003. Global perspectives on nematode parasite control in ruminant livestock: the need to adopt alternatives to chemotherapy, with emphasis on biological control. Ann. Health Res. Rev. 4, 35–43.

Wolstenholme, A.J., Rogers, A.T., 2005. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. Parasitology 131, 85–95.

Wood, I.B.; Amaral, N.K.; Bairden, K.; Duncan, J.L.; Kassai, T.; Malone, J.B. Jr.; Pankavich, J.A.; Reinecke, R.K.; Slocombe, O.; Taylor, S.M.; Vercruysse, J.; 1995.

World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). Guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). Vet. Parasitology., 10: 205-264.